

CICs在肝癌免疫治疗中的研究进展

聂宇君^{1,2}, 赵海平^{2*}, 王 飞²

¹内蒙古医科大学第一临床医学院, 内蒙古 呼和浩特

²内蒙古医科大学附属医院肝胆胰外科, 内蒙古 呼和浩特

收稿日期: 2024年6月9日; 录用日期: 2024年7月2日; 发布日期: 2024年7月10日

摘 要

一个细胞吞噬另一个细胞的“细胞套叠结构(CICs)”现象在癌症研究中引起了极大的兴趣, 特别是在肝癌免疫治疗中。在这种情况下, 细胞间相互作用不仅仅是物理吞噬, 更是反映了一个复杂的生物学过程。了解其具体机制不仅可以揭示新的癌症演变过程还可以为解决CICs与癌症相互作用而产生的耐药性的新治疗策略铺平道路。本文对CICs及其在肝癌免疫治疗中的研究现状做简要综述。

关键词

CICs, 肝癌, 免疫治疗

Research Progress of CICs in Immunotherapy of Liver Cancer

Yujun Nie^{1,2}, Haiping Zhao^{2*}, Fei Wang²

¹The First Clinical College of Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

²Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot Inner Mongolia

Received: Jun. 9th, 2024; accepted: Jul. 2nd, 2024; published: Jul. 10th, 2024

Abstract

The phenomenon of “cell-in-cell” (CICs) in which one cell phagocytose another has aroused great interest in cancer research, especially in the immunotherapy of liver cancer. In this case, the interaction between cells is not just physical phagocytosis, but reflects a complex biological process. Understanding the mechanism can not only reveal new processes of cancer evolution, but also pave the way for new therapeutic strategies to address drug resistance generated by CICs-cancer

*通讯作者。

文章引用: 聂宇君, 赵海平, 王飞. CICs 在肝癌免疫治疗中的研究进展[J]. 临床医学进展, 2024, 14(7): 219-226.

DOI: 10.12677/acm.2024.1472004

interactions. This article briefly reviews the research status of CICs and its application in the immunotherapy of liver cancer.

Keywords

CICs, Liver Cancer, Immunotherapy

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

1) 肝癌：原发性肝癌是威胁人类健康排名第六的常见癌症，也是癌症相关死亡的常见原因之一，据统计全球大概每年新发病例约为 84 万例，死亡病例约 78 万，死亡率达 8.2% [1]。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种起源于肝细胞的恶性肿瘤，其病因尚未完全明确，可能与病毒性肝炎、黄曲霉毒素、肝纤维化、遗传因素以及某些化学致癌物质等有关[2]。肝癌肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)在肿瘤的发展中起着至关重要的作用。TME 是一个由癌细胞、细胞因子、细胞外基质和免疫细胞亚群等组成的动态系统，肝癌细胞与 TME 中各种免疫成分的相互作用是复杂的[3]。多种免疫细胞在 TME 中共存并相互作用，包括肿瘤相关巨噬细胞(TAM)、CD4+和 CD8+ T 细胞、树突状细胞(DC)、自然杀伤(NK)细胞、肿瘤相关内皮细胞(EC)、异常肿瘤血管系统、癌症相关成纤维细胞(CAF)和髓源性免疫抑制细胞(MDSC) [4]。正常免疫细胞具有强大的抗肿瘤作用，可以诱导先天性和适应性免疫反应。然而，由于免疫抑制细胞、细胞因子或相关成分在 TME 中的积累，免疫细胞变得无效。甚至 TME 的独特条件也可能将这些免疫细胞中的一些转化为促肿瘤细胞[5]。传统的肝癌治疗方法如手术切除，热消融治疗，冷消融治疗等只能清除局部区域大部分病灶，残留的肿瘤细胞随着宿主身体免疫力的变化随时都会卷土重来，再次复发，复发之后可能是全身性的广泛转移，此时手术治疗将不再有效。随着现代分子生物学，肿瘤学等学科的迅速发展，免疫治疗逐渐成为医学界的研究热点。免疫治疗是通过增强免疫细胞识别肿瘤细胞的能力，激活肿瘤特异性免疫反应并打破宿主免疫耐受状态，从而达到以控制和清除肿瘤为目标的一种治疗方法[6]。

2) 细胞套叠结构(CICs)：CICs 的特征是一个或多个活细胞(称为效应细胞)内化于另一个细胞(称为宿主细胞)，被认为是一种简单的生理或病理现象，普遍存在于广泛组织中[7]。这个概念最初是在 19 世纪下半叶被提出来的，当时 Karl J. Eberth 报道了肠上皮细胞内的淋巴细胞[8]。27 年后，Steinhaus 描述了癌细胞之间产生的第一个同型 CICs 结构[9]。在整个 20 世纪，人们观察到许多类似的结构。为了描述它们，Von-Leyden 在 1904 年引入了“cell cannibalism”这个术语。1925 年，Lewis 观察到白细胞形成的同型 CICs 结构[10]，而 1956 年，Humble 用“emperipolexis”描述了“一个细胞被另一个保持完整的细胞主动侵入”的现象[11]。最近，又发现了两种新颖的 CICs 结构，即 entosis 和 enclysis [12] [13]。此外，还提出了一种新的吞噬细胞死亡形式，称为 phagoptosis [14] [15]。尽管在理解 CICs 方面取得了重大进展，但在细胞相互作用领域仍有很多有待发现。CICs 普遍存在于不同的组织中，因此，确定 CICs 的功能状态如何影响疾病和治疗反应非常重要。一般来说，在各种癌中，CICs 的发生率通常占总样本人群的 0.3%~2.5%，而令人惊讶的是，在某些情况下，预后不良患者的异质性乳腺癌组织中 CICs 形成率高达约 6% [16]。此外，还有研究报道胃癌细胞与免疫细胞形成的“CICs”结构不但会提高胃癌细胞的增殖和侵袭能力，还

会显著抑制细胞凋亡[17]。因此我们推断 CICs 在癌症中参与着某种免疫机制从而影响着肿瘤的发生与发展,探索 CICs 在患者中的免疫相关性的努力将为疾病治疗和预防提供新的方法。

2. 一般 CICs 分类

根据 CICs 的发生机制,我们将其分为两大类: endocytic CICs (内吞性 CICs)和 invasive CICs (侵入性 CICs)。在 endocytic CICs 中,外部细胞主动包围并吞噬内部细胞。在 invasive CICs 中,内部细胞启动该过程并主动进入宿主细胞的细胞质。随后,根据其分子机制, endocytic CICs 可分为两个亚群,即 phagocytosis-like CICs 和 pinocytosis-like CICs。Phagocytosis-like CICs 包括 cell cannibalism 和 phagoptosis。目前已知的 Pinocytosis-like CICs 只有一种: enclysis。enclysis 是由肝细胞和 CD4⁺ T 细胞形成的异型结构[13] [18]。phagoptosis 是吞噬作用的一种亚型,它表现为活细胞被吞噬细胞吞噬。phagoptosis 主要导致被吞噬细胞的死亡[14],而 cannibalism 与 phagoptosis 非常相似[19]。cannibalism 与 phagoptosis 的主要区别在于吞噬细胞的表型。cannibalism 是大多数细胞可以进行的类型,即非专业吞噬细胞,通过获得新的 cannibalistic 表型后进而获得吞噬邻近细胞的能力[19]。相反,参与吞噬的巨噬细胞总是具有吞噬表型,可以吞噬病原体、死亡细胞或活细胞。phagoptosis 可以是生理性的,也可以是病理性的,例如在炎症过程中[14]。cannibalism 的存在总是病理性的。cannibalism 和 phagoptosis 通常都会导致内化细胞的溶酶体死亡[14] [20]。enclysis 是 CICs 的一种独特形式。在这个过程中,肝细胞延伸其板状伪足以吞噬循环中的 T 淋巴细胞[13] [18]。与 phagocytosis-like CICs 相反,内细胞的类型决定其命运。调节性淋巴细胞通常通过溶酶体途径被消化,类似于 phagocytosis-like CICs 中的内细胞,但其他细胞则倾向于在很长一段时间内避免被降解[18]。invasive CICs 可分为 heterotypic (主要是 emperipolesis)和 homotypic (主要是 entosis)。invasive CICs 通常由内细胞发起,主动穿透外细胞的细胞质。entosis 和 emperipolesis 的分子机制涉及几种常见的蛋白,如 ezrin 和 E-cadherin [21] [22] [23]。然而,由于参与的细胞及其作用,它们显然是不同的过程。emperipolesis 是一种涉及异型 CICs 的过程,其中内细胞通常是白细胞。在非致瘤性细胞和癌细胞系中均可观察到白细胞的 emperipolesis [24]。它可能有不同的结果:内部细胞或外部细胞通过不同的机制死亡[23] [25],或者内部细胞逃逸,在这种情况下,两个相关细胞都保持完整[22]。emperipolesis 有不同的种类,分别为自杀性 emperipolesis、emperitosis、胸腺细胞 emperipolesis、巨噬细胞-中性粒细胞 emperipolesis 和巨核细胞-中性粒细胞 emperipolesis [22] [23] [25]-[27]。entosis 是一种侵袭性的同型 CIC 状态,它总是涉及两个或多个上皮细胞,通常是癌细胞。在这一过程中,内化的细胞要么通过溶酶体途径存活,要么通过溶酶体途径死亡[12] [28]。

3. 免疫治疗的基本策略

癌症是一种基因组疾病,其特征是基因组不稳定,在肿瘤进展过程中会积累许多点突变并发生结构改变[29] [30]。这种基因组变异可以产生肿瘤抗原,这些抗原可以被免疫系统识别为非自身物质并引发细胞免疫反应[31] [32]。免疫系统在免疫监视中起着至关重要的作用,适应性和先天性免疫系统的免疫细胞浸润到肿瘤微环境(TME)中并有助于调节肿瘤进展。先天免疫细胞由自然杀伤(NK)细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和吞噬细胞(包括肥大细胞、中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞(DC))组成,通过直接杀死肿瘤细胞或触发适应性免疫反应来参与肿瘤抑制。适应性免疫系统与淋巴细胞一起发挥作用,包括 B 细胞和 T 细胞,其中 B 细胞在体液免疫反应中起主要作用,而 T 细胞参与细胞介导的免疫反应[33]。有效的免疫反应可以根除恶性细胞或损害其表型和功能[31]。然而,癌细胞已经进化出多种机制,例如抗原呈递机制的缺陷、负调控通路的上调以及免疫抑制细胞群的募集,逃避免疫监视,导致免疫细胞效应功能受阻,抗肿瘤免疫反应消失[33]。免疫疗法旨在增强自然防御以消除恶性细胞,是癌症治疗的

一项重大突破,并彻底改变了肿瘤学领域。传统的免疫疗法通过利用细菌或病毒感染来增强免疫反应来治疗癌症,这种开创性的策略为利用免疫系统治疗癌症提供了概念证明。之后发明了 CAR-T 细胞疗法,其作用机制是利用抗体片段识别癌细胞表面表达的特异性抗原[33]。最近新兴起的免疫检查点抑制剂(ICI),现在正在进入医疗实践,并已成为最重要的免疫疗法之一。免疫检查点是共抑制信号通路的分子,其作用是维持免疫耐受,但它们通常被癌细胞用来逃避免疫监视。ICI 通过中断共抑制信号通路来重振抗肿瘤免疫应答,并促进免疫介导的恶性细胞消除[34] [35]。

4. CICs 对免疫治疗的影响

免疫疗法旨在激活一组称为杀伤性 T 细胞的特殊细胞,这些细胞负责对肿瘤的免疫反应。这些细胞可以识别癌细胞并通过它们的膜注射有毒颗粒,杀死它们。然而,杀伤性 T 细胞并不总是有效的。这是因为癌细胞天生善于避免被发现,在治疗过程中,它们的基因会发生突变,从而为它们提供逃避免疫系统的新方法。有趣的是,当科学家分析免疫治疗前后的肿瘤细胞基因时,他们发现许多编码 T 细胞识别的蛋白质的基因并没有显著变化。这表明肿瘤对免疫攻击的抵抗力可能是物理的,而不是遗传的。为了研究这一假设,Gutwillig 等人开发了几种小鼠肿瘤模型,这些模型在初始治疗后停止了对免疫治疗的反应。检查这些肿瘤细胞表明,当免疫系统攻击时,它们会通过相互进入内部进行重组。这使得一些癌细胞隐藏在许多层细胞膜下。此时,杀伤性 T 细胞可以识别并向外部细胞注射有毒颗粒,但无法到达内部细胞。癌细胞相互隐藏的这种能力依赖于它们识别免疫系统何时攻击。发生这种情况是因为癌细胞可以检测到杀伤性 T 细胞释放的某些信号,从而使它们隐藏起来。虽然这种 CICs 形成中的外部细胞经常被反应性 T 细胞杀死,但一旦 T 细胞不再存在,内部细胞就会保持完整并扩散到单个肿瘤细胞中。这种机制主要由 $\text{IFN}\gamma$ 激活的 T 细胞介导,随后诱导肿瘤细胞中转录因子信号转导和转录激活因子 3 (STAT3) 和早期生长反应 1 (EGR-1) 的磷酸化所形成的。事实上,在免疫治疗之前抑制这些因素可显著提高其治疗效果。总体而言,该项研究突出了免疫疗法目前无法克服的局限性,并揭示了一种以前未知的耐药机制,该机制使肿瘤细胞能够在免疫介导的杀伤中存活,而不会改变其免疫原性。这种对癌细胞如何逃逸免疫系统的新解释可以指导未来的研究,并产生新的癌症治疗方法,或促进现有的治疗方法。更详细地了解这一过程可以使科学家通过揭示阻断哪些信号以及何时阻断来防止它发生,以获得最佳结果[36]。

5. CICs 对肝癌免疫治疗的影响

调节性 T 细胞(Treg)在抑制过度活跃的免疫反应方面发挥着关键作用[37] [38]。Treg 细胞通过分泌免疫抑制细胞因子来抑制免疫效应器功能,通过剥夺效应细胞的 IL-2 和其他直接和间接过程,与效应 T 细胞竞争共同的刺激分子,从而抑制免疫效应功能[39]。慢性病理性炎症是肝硬化 HCC 发生的关键驱动因素,这一点已经得到证实[40]。反复和未解决的肝组织损伤导致局部免疫反应的组成性激活,导致促炎因子和有丝分裂细胞因子如 IL-6 和肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的分泌增强[41]。这再加上随后效应免疫细胞的募集,导致了促炎组织微环境的形成。由肝脏血流受损引起的缺氧环境进一步加剧了肝硬化肝脏的炎症。这样的恶劣环境驱动肝细胞凋亡,增加活性氧的产生,驱动肝细胞突变和基因组不稳定,进一步增强致癌表型[42] [43]。促炎环境的产生也会刺激调节性免疫细胞的募集。

在 HCC 中,肿瘤相关巨噬细胞分泌趋化因子 CCL17 和 CCL2 增强后,肿瘤浸润性 Tregs 被募集到肿瘤部位[44]。一旦被激活,这些细胞通过各种免疫抑制机制促进免疫逃避,包括 TGF- β 和 IL-10 的分泌,抑制树突状细胞活化和抗原呈递,以及颗粒酶依赖性细胞毒性[45]。细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (CTLA-4) 的组成表达对于 Treg 免疫抑制功能很重要,因为它与树突状细胞表面的 CD80 和 CD86 配体的相互作用阻碍了抗原提呈细胞被共刺激分子激活[46]。HCC 发病的不同阶段与肿瘤浸润免疫细胞群的不

同特征有关[47]。一项对 1090 例 HCC 肿瘤浸润免疫细胞的大规模分析显示,较大的肿瘤内 Treg 群与较差的患者预后密切相关[48]。这一发现与几项研究一致,这些研究也报告了高水平的 Treg 浸润与各种不同类型癌症(包括乳腺癌、宫颈癌和黑色素瘤)的不良预后和治疗反应之间的关联[49] [50] [51]。2020 年, Yu 等人也报道了肿瘤组织中 Treg 数量比邻近健康组织增加了 3 倍以上,进一步表明 Treg 与 HCC 的发展有关[48]。在另一项研究中, HCC 肿瘤中较高比例的 Treg 肿瘤浸润也与组织分化差和肝纤维化晚期相关[52]。总的来说, Treg 水平升高似乎与患者预后不良有关。CD4+ T 细胞在指导免疫方面发挥着关键作用,无论是作为 T 辅助细胞还是作为调节 T (Treg)细胞。有研究证明了肝细胞可以通过吞噬活 CD4+淋巴细胞来调节 T 细胞群。我们称这种现象为 Enclysis [53]。因此,我们提出利用肝细胞的 enclysis 能力来提供一种新的特异性机制来减少 HCC 中 Treg 的数量。在 HCC 背景下增强 Enclysis 可以限制 Treg 频率,减轻肿瘤微环境中的局部免疫抑制,从而恢复肿瘤的免疫原性,抑制 HCC 的肿瘤发生。Treg 细胞已被探索为多种不同癌症类型的治疗靶点[44]。这些方法的主要目的是通过消除肿瘤基质内 Tregs 的抑制作用来恢复和补充固有的抗肿瘤免疫应答。例如,在黑色素瘤的情况下,抗体阻断 CTLA-4 会导致体内 CD8+ T 和 CD4+ T 细胞浸润的强烈增加,以及肿瘤内 Tregs 比例的降低[54]。此外,体外提取 HCC 患者的 CD8+ T 细胞与 Treg 细胞共培养表明,与对照 Treg 细胞相比,抗 pd-1 和抗 pd-L1 处理的 Treg 细胞可恢复 IFN-g 分泌,从而抑制 IFN-g 分泌和 CD8+ T 细胞的细胞毒性[55]。尽管有这些发现,免疫检查点单药治疗晚期 HCC 患者的临床试验显示,患者预后仅略有改善。使用抗 CTLA-4 单克隆抗体 tremelimumab 治疗 HCC 患者的部分缓解率低于 20% [56]。此外,一项 III 期临床研究得出结论,抗 PD-1 抗体 nivolumab 在改善 HCC 患者的总生存率方面没有索拉非尼治疗的优势[57],这表明检查点抑制可能不足以超越肝脏内在免疫耐受机制。药物增强 enclysis 可作为检查点阻断免疫治疗的辅助手段,进一步消耗肿瘤浸润的 Treg 群体,从而提高晚期 HCC 患者 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 阻断的疗效。作为一种天然的肝脏限制过程,在检查点抑制或 CAR-T 细胞治疗存在或不存在的条件下,局部和短暂的靶向 enclysis 可能会增强抗肿瘤反应。为了明确地靶向 enclysis,我们必须阐明 T 细胞被肝细胞吞噬的机制。重要的是要注意,在考虑靶向 enclysis 的方法时,我们必须考虑肝细胞的 housekeeping 功能,如吞噬作用,并防止这些功能的调节成为副作用。T 细胞和肝细胞之间的 enclysis 受体相互作用可以通过阻断抗体被抑制,或者通过可溶性因子的处理来增强,这些可溶性因子上调了假定受体的表面表达。此外,通过了解 Treg 细胞粘附后导致内化的信号级联事件,我们可以专门针对 enclysis。例如,有研究已经证明,囊泡富含 β -catenin,而不是 E-cadherin,尽管两者对癌细胞的上皮细胞内细胞结构都很重要[12] [53]。了解 Wnt/b-catenin 信号通路分子是否在囊泡的形成中发挥作用将是很重要的[58]。细胞渗透性小分子或生长因子是调节信号通路的理想选择。最后,有研究已经证明肝细胞能够区分调节性 T 细胞(导致其降解)和辅助性 T 细胞(导致存活和释放) [53]。了解肝细胞进行这种区分的机制将揭示治疗干预的新分子靶点。例如,为了减少肝脏中调节性 T 细胞的频率,我们可以操纵肝细胞,使其增加 Treg 细胞在囊泡中的降解。

6. 小结与展望

肝癌对人类健康造成严重的威胁,其侵袭转移的特性使肿瘤很难通过普通外科技术完全根治,因此研发其他精准有效的治疗方法显得尤为重要。CICs 在肝癌细胞侵袭转移的过程中发挥着重要作用,所以 CICs 发生过程中的相关通路非常值得进一步深入研究,后续可能的研究方向包括进一步探索 enclysis 过程的分子机制和调控因素,以及研究 enclysis 在其他免疫调节过程中的作用。此外,可以进一步研究 enclysis 在肝脏疾病中的作用,以及开发相关的治疗策略。

基金项目

国家自然科学基金项目(82260481);中央引导地方科技发展资金项目(2023ZY0021);内蒙古医科大学附属

医院院级科研项目计划国自然培育项目(2023NYFYYPY004); 内蒙古自治区科技计划项目(2022YFSH0112)。

参考文献

- [1] Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A. and Jemal, A. (2018) Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **68**, 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- [2] Oura, K., Morishita, A., Tani, J. and Masaki, T. (2021) Tumor Immune Microenvironment and Immunosuppressive Therapy in Hepatocellular Carcinoma: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article 5801. <https://doi.org/10.3390/ijms22115801>
- [3] Chew, V., Lai, L., Pan, L., Lim, C.J., Li, J., Ong, R., et al. (2017) Delineation of an Immunosuppressive Gradient in Hepatocellular Carcinoma Using High-Dimensional Proteomic and Transcriptomic Analyses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **114**, E5900-E5909. <https://doi.org/10.1073/pnas.1706559114>
- [4] Cheng, K., Cai, N., Zhu, J., Yang, X., Liang, H. and Zhang, W. (2022) Tumor-Associated Macrophages in Liver Cancer: From Mechanisms to Therapy. *Cancer Communications*, **42**, 1112-1140. <https://doi.org/10.1002/cac2.12345>
- [5] Peng, C., Xu, Y., Wu, J., Wu, D., Zhou, L. and Xia, X. (2024) TME-Related Biomimetic Strategies against Cancer. *International Journal of Nanomedicine*, **19**, 109-135. <https://doi.org/10.2147/ijn.s441135>
- [6] 都亚薇, 张宁宁, 陆伟. 肝癌免疫治疗的研究现状及展望[J]. 实用肿瘤杂志, 2021, 36(5): 393-398.
- [7] Chen, Q., Wang, X. and He, M. (2022) Cell-in-Cell: From Cell Biology to Translational Medicine. *BioMed Research International*, **2022**, Article 7608521. <https://doi.org/10.1155/2022/7608521>
- [8] Eberth, J. (1864) Über die feineren bau der darmschleithaut. *Würzburger Naturwissenschaftliche Zeitschrift*, **5**, 11.
- [9] Steinhaus, J. (1891) Ueber Carcinom-Einschlüsse. (Aus dem Pathologischen Laboratorium der k. Universität zu Warschau.). In: Steinhaus, J., Ed., *Band 126*, De Gruyter, Boston, 533-541. <https://doi.org/10.1515/9783112369142-030>
- [10] Lewis, W.H. (1925) The Engulfment of Living Blood Cells by Others of the Same Type. *The Anatomical Record*, **31**, 43-49. <https://doi.org/10.1002/ar.1090310106>
- [11] Humble, J.G., Jayne, W.H.W. and Pulvertaft, R.J.V. (1956) Biological Interaction between Lymphocytes And. Other Cells. *British Journal of Haematology*, **2**, 283-294. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1956.tb06700.x>
- [12] Overholtzer, M., Mailleux, A.A., Mouneimne, G., Normand, G., Schnitt, S.J., King, R.W., et al. (2007) A Nonapoptotic Cell Death Process, Entosis, That Occurs by Cell-In-Cell Invasion. *Cell*, **131**, 966-979. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.040>
- [13] Davies, S.P., Reynolds, G.M., Wilkinson, A.L., Li, X., Rose, R., Leekha, M., et al. (2019) Hepatocytes Delete Regulatory T Cells by Enclysis, a CD4⁺ T Cell Engulfment Process. *Cell Reports*, **29**, 1610-1620.e4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.09.068>
- [14] Lozupone, F. and Fais, S. (2015) Cancer Cell Cannibalism: A Primeval Option to Survive. *Current Molecular Medicine*, **15**, 836-841. <https://doi.org/10.2174/1566524015666151026100916>
- [15] Lozupone, F., Perdicchio, M., Brambilla, D., Borghi, M., Meschini, S., Barca, S., et al. (2009) The Human Homologue of *Dictyostelium discoideum* Phg1A Is Expressed by Human Metastatic Melanoma Cells. *EMBO Reports*, **10**, 1348-1354. <https://doi.org/10.1038/embor.2009.236>
- [16] Ruan, B., Niu, Z., Jiang, X., Li, Z., Tai, Y., Huang, H., et al. (2019) High Frequency of Cell-in-Cell Formation in Heterogeneous Human Breast Cancer Tissue in a Patient with Poor Prognosis: A Case Report and Literature Review. *Frontiers in Oncology*, **9**, Article 1444. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01444>
- [17] 孙静, 闵婕, 单宇鹏, 等. “cell-in-cell”对胃癌细胞生物学行为的影响[J]. 西部医学, 2022, 34(9): 1272-1275.
- [18] Davies, S.P., Terry, L.V., Wilkinson, A.L. and Stamataki, Z. (2020) Cell-in-cell Structures in the Liver: A Tale of Four E's. *Frontiers in Immunology*, **11**, Article 650. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00650>
- [19] Brown, G.C. and Neher, J.J. (2012) Eaten Alive! Cell Death by Primary Phagocytosis: ‘Phagoptosis’. *Trends in Biochemical Sciences*, **37**, 325-332. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2012.05.002>
- [20] Lugini, L., Matarrese, P., Tinari, A., Lozupone, F., Federici, C., Iessi, E., et al. (2006) Cannibalism of Live Lymphocytes by Human Metastatic but Not Primary Melanoma Cells. *Cancer Research*, **66**, 3629-3638. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-3204>
- [21] Hinojosa, L.S., Holst, M., Baarlink, C. and Grosse, R. (2017) MRTF Transcription and Ezrin-Dependent Plasma Membrane Blebbing Are Required for Entotic Invasion. *Journal of Cell Biology*, **216**, 3087-3095. <https://doi.org/10.1083/jcb.201702010>
- [22] Cunin, P., Bouslama, R., Machlus, K.R., Martínez-Bonet, M., Lee, P.Y., Wactor, A., et al. (2019) Megakaryocyte Em-

- peripoleosis Mediates Membrane Transfer from Intracytoplasmic Neutrophils to Platelets. *eLife*, **8**, e44031. <https://doi.org/10.7554/elife.44031>
- [23] Wang, S., He, M., Chen, Y., Wang, M., Yu, X., Bai, J., *et al.* (2013) Rapid Reuptake of Granzyme B Leads to Emperitosis: An Apoptotic Cell-in-Cell Death of Immune Killer Cells Inside Tumor Cells. *Cell Death & Disease*, **4**, e856. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.352>
 - [24] Bauer, M.F., Hader, M., Hecht, M., Büttner-Herold, M., Fietkau, R. and Distel, L.V.R. (2021) Cell-in-Cell Phenomenon: Leukocyte Engulfment by Non-Tumorigenic Cells and Cancer Cell Lines. *BMC Molecular and Cell Biology*, **22**, Article No. 39. <https://doi.org/10.1186/s12860-021-00377-3>
 - [25] Benseler, V., Warren, A., Vo, M., Holz, L.E., Tay, S.S., Le Couteur, D.G., *et al.* (2011) Hepatocyte Entry Leads to Degradation of Autoreactive CD8 T Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108**, 16735-16740. <https://doi.org/10.1073/pnas.1112251108>
 - [26] Guyden, J., Martinez, M., Chilukuri, R., Reid, V., Kelly, F. and Samms, M. (2015) Thymic Nurse Cells Participate in Heterotypic Internalization and Repertoire Selection of Immature Thymocytes; Their Removal from the Thymus of Autoimmune Animals May Be Important to Disease Etiology. *Current Molecular Medicine*, **15**, 828-835. <https://doi.org/10.2174/1566524015666151026102328>
 - [27] Yener, Y. and Dikmenli, M. (2011) The Effects of Acrylamide on the Frequency of Megakaryocytic Emperipoleosis and the Mitotic Activity of Rat Bone Marrow Cells. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **91**, 1810-1813. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4388>
 - [28] Mlynarczuk-Bialy, I., Dziuba, I., Sarnecka, A., Platos, E., Kowalczyk, M., Pels, K.K., *et al.* (2020) Entosis: From Cell Biology to Clinical Cancer Pathology. *Cancers*, **12**, Article 2481. <https://doi.org/10.3390/cancers12092481>
 - [29] Stratton, M.R., Campbell, P.J. and Futreal, P.A. (2009) The Cancer Genome. *Nature*, **458**, 719-724. <https://doi.org/10.1038/nature07943>
 - [30] Podlaha, O., Riester, M., De, S. and Michor, F. (2012) Evolution of the Cancer Genome. *Trends in Genetics*, **28**, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.01.003>
 - [31] Matsushita, H., Vesely, M.D., Koboldt, D.C., Rickert, C.G., Uppaluri, R., Magrini, V.J., *et al.* (2012) Cancer Exome Analysis Reveals a T-Cell-Dependent Mechanism of Cancer Immunoediting. *Nature*, **482**, 400-404. <https://doi.org/10.1038/nature10755>
 - [32] Schreiber, R.D., Old, L.J. and Smyth, M.J. (2011) Cancer Immunoediting: Integrating Immunity's Roles in Cancer Suppression and Promotion. *Science*, **331**, 1565-1570. <https://doi.org/10.1126/science.1203486>
 - [33] Zhang, Y. and Zhang, Z. (2020) The History and Advances in Cancer Immunotherapy: Understanding the Characteristics of Tumor-Infiltrating Immune Cells and Their Therapeutic Implications. *Cellular & Molecular Immunology*, **17**, 807-821. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0488-6>
 - [34] Pardoll, D.M. (2012) The Blockade of Immune Checkpoints in Cancer Immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, **12**, 252-264. <https://doi.org/10.1038/nrc3239>
 - [35] Chen, L. and Flies, D.B. (2013) Molecular Mechanisms of T Cell Co-Stimulation and Co-Inhibition. *Nature Reviews Immunology*, **13**, 227-242. <https://doi.org/10.1038/nri3405>
 - [36] Gutwillig, A., Santana-Magal, N., Farhat-Younis, L., Rasoulouniriana, D., Madi, A., Luxenburg, C., *et al.* (2022) Transient Cell-in-Cell Formation Underlies Tumor Relapse and Resistance to Immunotherapy. *eLife*, **11**, e80315. <https://doi.org/10.7554/elife.80315>
 - [37] Ferreira, L.M.R., Muller, Y.D., Bluestone, J.A. and Tang, Q. (2019) Next-Generation Regulatory T Cell Therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, **18**, 749-769. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0041-4>
 - [38] Bluestone, J.A. and Tang, Q. (2018) T_{reg} Cells—The Next Frontier of Cell Therapy. *Science*, **362**, 154-155. <https://doi.org/10.1126/science.aau2688>
 - [39] Romano, M., Fanelli, G., Albany, C.J., Giganti, G. and Lombardi, G. (2019) Past, Present, and Future of Regulatory T Cell Therapy in Transplantation and Autoimmunity. *Frontiers in Immunology*, **10**, Article 43. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00043>
 - [40] Tarao, K., Nozaki, A., Ikeda, T., Sato, A., Komatsu, H., Komatsu, T., *et al.* (2019) Real Impact of Liver Cirrhosis on the Development of Hepatocellular Carcinoma in Various Liver Diseases—Meta-Analytic Assessment. *Cancer Medicine*, **8**, 1054-1065. <https://doi.org/10.1002/cam4.1998>
 - [41] Ramakrishna, G., Rastogi, A., Trehanpati, N., Sen, B., Khosla, R. and Sarin, S.K. (2013) From Cirrhosis to Hepatocellular Carcinoma: New Molecular Insights on Inflammation and Cellular Senescence. *Liver Cancer*, **2**, 367-383. <https://doi.org/10.1159/000343852>
 - [42] O'Rourke, J.M., Sagar, V.M., Shah, T. and Shetty, S. (2018) Carcinogenesis on the Background of Liver Fibrosis: Implications for the Management of Hepatocellular Cancer. *World Journal of Gastroenterology*, **24**, 4436-4447.

- <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i39.4436>
- [43] Takaki, A. (2015) Control of Oxidative Stress in Hepatocellular Carcinoma: Helpful or Harmful? *World Journal of Hepatology*, **7**, 968-979. <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i7.968>
 - [44] Pinato, D.J., Guerra, N., Fessas, P., Murphy, R., Mineo, T., Mauri, F.A., *et al.* (2020) Immune-Based Therapies for Hepatocellular Carcinoma. *Oncogene*, **39**, 3620-3637. <https://doi.org/10.1038/s41388-020-1249-9>
 - [45] Wang, Y., Ma, Y., Fang, Y., Wu, S., Liu, L., Fu, D., *et al.* (2012) Regulatory T Cell: A Protection for Tumour Cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **16**, 425-436. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2011.01437.x>
 - [46] Qureshi, O.S., Zheng, Y., Nakamura, K., Attridge, K., Manzotti, C., Schmidt, E.M., *et al.* (2011) Trans-Endocytosis of CD80 and CD86: A Molecular Basis for the Cell-Extrinsic Function of CTLA-4. *Science*, **332**, 600-603. <https://doi.org/10.1126/science.1202947>
 - [47] Budhu, A., Forgues, M., Ye, Q., Jia, H., He, P., Zanetti, K.A., *et al.* (2006) Prediction of Venous Metastases, Recurrence, and Prognosis in Hepatocellular Carcinoma Based on a Unique Immune Response Signature of the Liver Microenvironment. *Cancer Cell*, **10**, 99-111. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.06.016>
 - [48] Yu, S., Wang, Y., Hou, J., Li, W., Wang, X., Xiang, L., *et al.* (2020) Tumor-Infiltrating Immune Cells in Hepatocellular Carcinoma: Tregs Is Correlated with Poor Overall Survival. *PLOS ONE*, **15**, e0231003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231003>
 - [49] Zhou, Y., Shao, N., Aierken, N., Xie, C., Ye, R., Qian, X., *et al.* (2017) Prognostic Value of Tumor-Infiltrating FoxP3⁺ Regulatory T Cells in Patients with Breast Cancer: A Meta-Analysis. *Journal of Cancer*, **8**, 4098-4105. <https://doi.org/10.7150/jca.21030>
 - [50] Shang, B., Liu, Y., Jiang, S. and Liu, Y. (2015) Prognostic Value of Tumor-Infiltrating FoxP3⁺ Regulatory T Cells in Cancers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Scientific Reports*, **5**, Article No. 15179. <https://doi.org/10.1038/srep15179>
 - [51] Leslie, C., Bowyer, S.E., White, A., Grieu-Iacopetta, F., Trevenen, M., Iacopetta, B., *et al.* (2015) FOXP3⁺ T Regulatory Lymphocytes in Primary Melanoma Are Associated with BRAF Mutation but Not with Response to BRAF Inhibitor. *Pathology*, **47**, 557-563. <https://doi.org/10.1097/pat.0000000000000314>
 - [52] Kurebayashi, Y., Ojima, H., Tsujikawa, H., Kubota, N., Maehara, J., Abe, Y., *et al.* (2018) Landscape of Immune Microenvironment in Hepatocellular Carcinoma and Its Additional Impact on Histological and Molecular Classification. *Hepatology*, **68**, 1025-1041. <https://doi.org/10.1002/hep.29904>
 - [53] Davies, S.P., Reynolds, G.M., Wilkinson, A.L., Li, X., Rose, R., Leekha, M., *et al.* (2019) Hepatocytes Delete Regulatory T Cells by Enclysis, a CD4⁺ T Cell Engulfment Process. *Cell Reports*, **29**, 1610-1620.E4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.09.068>
 - [54] Curran, M.A., Montalvo, W., Yagita, H. and Allison, J.P. (2010) PD-1 and CTLA-4 Combination Blockade Expands Infiltrating T Cells and Reduces Regulatory T and Myeloid Cells within B16 Melanoma Tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 4275-4280. <https://doi.org/10.1073/pnas.0915174107>
 - [55] Langhans, B., Nischalke, H.D., Krämer, B., Dold, L., Lutz, P., Mohr, R., *et al.* (2019) Role of Regulatory T Cells and Checkpoint Inhibition in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **68**, 2055-2066. <https://doi.org/10.1007/s00262-019-02427-4>
 - [56] Sangro, B., Gomez-Martin, C., de la Mata, M., Iñarrairaegui, M., Garralda, E., Barrera, P., *et al.* (2013) A Clinical Trial of CTLA-4 Blockade with Tremelimumab in Patients with Hepatocellular Carcinoma and Chronic Hepatitis C. *Journal of Hepatology*, **59**, 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.02.022>
 - [57] Sangro, B., Park, J., Dela Cruz, C.M., Anderson, J., Lang, L., Neely, J., *et al.* (2016) A Randomized, Multicenter, Phase 3 Study of Nivolumab vs Sorafenib as First-Line Treatment in Patients (pts) with Advanced Hepatocellular Carcinoma (HCC): CheckMate-459. *Journal of Clinical Oncology*, **34**, TPS4147. https://doi.org/10.1200/jco.2016.34.15_suppl.tps4147
 - [58] Li, X., Xiang, Y., Li, F., Yin, C., Li, B. and Ke, X. (2019) WNT/β-Catenin Signaling Pathway Regulating T Cell-Inflammation in the Tumor Microenvironment. *Frontiers in Immunology*, **10**, Article 2293. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02293>